

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE TRUJILLO
BENEDICTO XVI

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE ESTUDIOS DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL LÁTEX DE *Hura crepitans* (CATAHUA) SOBRE CULTIVOS DE *Staphylococcus aureus*

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR

Br. Carlos Julca Sánchez

ASESOR

Mg. Francisco Tito Cerna Reyes

LÍNEA DE INVESTIGACION

Plantas medicinales y productos naturales con potencial farmacéutico y terapéutico

TRUJILLO – PERÚ
2023

AUTORIDADES

Excmo. Mons. Dr. Héctor Miguel Cabrejos Vidarte

Rector

Mg. Jorge Isaac Manrique Catalán

Gerente General

C.P.C. Alejandro Carlos García Flores

Gerente de Administración y Finanzas

Dr. Francisco Alejandro Espinoza Polo

Vicerrector de Investigación

Dra. Silvia Ana Valverde Zavaleta

Vicerrectora Académica

Dra. Mariana Geraldine Silva Balarezo

Decana de la Facultad de Ciencias de la Salud

Dra. Teresa Sofía Reátegui Marín

Secretaría General



ACTA APROBACIÓN DE ASESOR

Yo Francisco Tito Cerna Reyes, con DNI N°19021556, Asesor del Trabajo de Investigación titulado “EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL LÁTEX DE Hura crepitans (CATAHUA) SOBRE

CULTIVOS DE Staphylococcus aureus”; desarrollado por el Bach. Julca Sánchez, Carlos con DNI N°43061906, egresada de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica, considero que dicho trabajo de graduación reúne los requisitos tanto técnicos como científicos y corresponden con las normas establecidas en el reglamento de titulación de la Universidad Católica de Trujillo Benedicto XVI y en la normativa para la presentación de trabajos de graduación de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Por tanto, autorizo la presentación del mismo ante el organismo pertinente para que sea sometido a evaluación por los jurados designados por la referida Facultad.

Apellidos y nombres de asesor. Cerna Reyes Francisco Tito
Q.F. MS.c

Firma.....
ASESOR

DEDICATORIA

A mi esposa e hija, quienes son mi motor de vida, que mediante su esfuerzo y apoyo contribuyen a mi desarrollo, como persona y profesional, cada día de mi vida.

A mis hermanos(as), por su apoyo emocional y consejos brindados en el transcurso y término de mi carrera.

Carlos.

AGRADECIMIENTO

A DIOS:

Por brindarme la vida y la oportunidad de seguir en el camino de la superación, brindándome la fuerza necesaria para poder conllevar de la mejor manera cada obstáculo en el transcurso de este periodo corto de mi vida.

A MIS DOCENTES:

Por su compromiso incondicional frente a la educación de los estudiantes y por enseñanzas de mayor complejidad, sus consejos y correcciones nos enseñan el camino del éxito.

A LA UNIVERSIDAD:

Por ser parte de mi tan anhelada superación brindándome el espacio necesario de sus ambientes.

Carlos.



**DECLARACIÓN JURADA DE VERACIDAD DE INFORMACIÓN Y
DOCUMENTACIÓN
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL EN LA UCT**

Yo, Carlos Julca Sánchez identificado (a) con DNI N° 43061906, con domicilio en PSJ.SAN JOSE C-01, distrito de Nueva Cajamarca, Provincia de Rioja, departamento San Martín, con correo electrónico carlosjs12.85@gmail.com a donde acepto me notifiquen, y teléfono 964658622 soy bachiller de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica de Trujillo "Benedicto XVI" (UCT) y declaro bajo juramento lo siguiente:

1. **Al haber obtenido mi grado de bachiller en la Universidad Católica de Trujillo "Benedicto XVI" de conformidad con la normatividad contenida en la Ley N° 30220, Ley Universitaria y el Reglamento de Grados y Títulos de la SUNEDU, así como la normatividad interna de la universidad para estos casos, es mi deseo iniciar el trámite para obtener mi título profesional en la UCT, universidad licenciada.**
2. **Declaro también que toda la documentación que presento para obtener mi título profesional es información y documentación veraz y fidedigna, bajo responsabilidad.**
3. **Declaro bajo juramento que, respecto a mi proyecto de investigación (tesis) para optar por el título profesional, me encuentro en el siguiente supuesto:**

- Mi Tesis no se encuentra alojada en el Repositorio de la ULADECH ni de ninguna otra universidad.
- Mi tesis se encuentra alojada en el repositorio de la ULADECH y de manera voluntaria he solicitado y se encuentra en trámite la baja de mi tesis del mencionado repositorio, para lo cual cumplo con adjuntar la solicitud presentada ante ULADECH.

Así mismo declaro bajo juramento que la documentación que entrego adjunta a esta Declaración Jurada es veraz, y de no ser así, esta será causal de aplicación de las medidas disciplinarias correspondiente por UCT, **así como las acciones judiciales, civiles y penales a las que haya lugar, bajo responsabilidad.**

Atentamente,

FIRMA:

DNI: 43061906

LUGAR Y FECHA: 20-11-2022

HUELLA DIGITAL:



ÍNDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	12
II. METODOLOGÍA	22
2.1. Objeto de estudio	22
2.2. Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos.....	24
2.3. Análisis de la información	27
2.4. Aspectos éticos en investigación	28
III. RESULTADOS	30
IV. DISCUSIÓN	36
V. CONCLUSIONES	39
VI. RECOMENDACIONES.....	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
ANEXOS	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Prueba de análisis de varianza del efecto antibacteriano del <i>Látex</i> de <i>Hura crepitans</i> “catahua” a diferentes concentraciones y doxiciclina como control positivo sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> in vitro	30
Tabla 2. Prueba Post Hoc del efecto antibacteriano del <i>Látex Hura crepitans</i> “catahua” a diferentes concentraciones y doxiciclina como control positivo sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> in vitro	31
Tabla 3. Actividad antibacteriana, in vitro, por diferentes concentraciones de <i>Látex de Hura crepitans</i> “catahua” sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 horas de incubación, usando doxiciclina como grupo control positivo	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Comparación del efecto antibacteriano, de <i>Hura crepitans</i> en los cultivos de de <i>Staphylococcus aureus</i> expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 horas de incubación, usando doxiciclina como grupo control positivo	33
Figura 2: Desviación Estándar del diámetro de los halos de inhibición (mm) producidos por los discos de papel que contienen 5 µL de látex <i>Hura crepitans</i> “catahua” al 75%	34
Figura 3: Desviación Estándar de los halos de inhibición (mm) producidos por los discos de papel que contienen doxiciclina a la concentración de 3µg/disco.....	35
Figura 4: Planta de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA)	47
Figura 5: Certificación de la planta de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA)	48
Figura 6: Extracción del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA).....	49

RESUMEN

El presente estudio de investigación, de diseño experimental, nivel explicativo y enfoque cuantitativo, se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Se utilizó el extracto de látex de *Hura crepitans* a diferentes concentraciones 25%, 50% y 75% para los grupos experimentales y como fármaco estándar se utilizó Doxiciclina (30mg/disco). Se evaluó la sensibilidad utilizando el método de disco difusión, Kirby- Bauer para medir los halos de inhibición, obtenidos a las 24 horas de incubación en los diferentes grupos. Los resultados obtenidos son: para el grupo estándar Doxiciclina obteniendo un halo de inhibición de 24.23 ± 0.88 mm; para el extracto de 25% (11.77 ± 0.61), 50% (14.76 ± 0.89) y 75% (18.67 ± 0.51). Los resultados fueron sometidos a la prueba ANOVA post HOC Tukey, se aprecia que existe una diferencia estadísticamente significativa en los 3 tipos de concentraciones. Se concluyó que el látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) presentó efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

PALABRAS CLAVE: *Hura crepitans*, antibacteriano, látex, catahua, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

The present research study, of experimental design, explanatory level and quantitative approach, was carried out with the aim of evaluating the in vitro antibacterial effect of *Hura crepitans latex* (CATAHUA) on *Staphylococcus aureus* strains. The latex extract of *Hura crepitans* at different concentrations 25%, 50% and 75% was used for the experimental groups and Doxycycline (30mg / disc) was used as the standard drug. Sensitivity was evaluated using the Kirby-Bauer diffusion disk method to measure the inhibition halos, obtained at 24 hours in the different groups. The results obtained for the standard group Doxycycline obtaining an inhibition halo of 24.23 ± 0.88 mm.; for the extract of 25% (11.77 ± 0.61), 50% (14.76 ± 0.89) and 75% (18.67 ± 0.51). The results were subjected to the ANOVA post HOC Tukey tests, it is appreciated that there is a statistically significant difference in the 3 types of concentrations. It was concluded that the latex of *Hura crepitans* (CATAHUA) had an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* strains.

KEY WORDS: *Hura crepitans*, antibacterial, latex, catahua, *Staphylococcus aureus*

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde siempre y han demostrado ser efectivas, con el paso del tiempo, han sido preparadas de diversas formas como por ejemplo extracto crudo, incluso en la actualidad se las estudian los principios activos debidamente aislados permitiendo encontrar posibles candidatos a fármacos para el tratamiento de enfermedades causadas por elementos patógenos diversos, en los que se aprecia su acción inhibitoria; gracias a esto, las plantas medicinales ocupan una posición única, con repercusiones directas en la salud de las personas; sin embargo, es necesario tener en cuenta la interacción y la influencia de la medicina moderna alopática ^(1,2) .

Las enfermedades infecciosas son la segunda causa más importante de muerte humana a nivel mundial; por ejemplo, el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es un microorganismo patógeno humano, muy común, que puede desencadenar diversas enfermedades infecciosas, como el de la piel y tejidos blandos, endocarditis, osteomielitis, bacteriemia y neumonía letal. *S. aureus* es un agente que mediante lesiones de epidermis simples o complejas se favorecen y pueden penetrar a la dermis y tejidos más profundos causando purulencias y abscesos; por su amplia variación pueden originar múltiples enfermedades como infecciones invasoras complejas de la dermis ^(3,4).

La comprensión profunda de la función y la contribución de los determinantes de virulencia de *S. aureus* en las infecciones, nos permitirán desarrollar estrategias anti virulencia para contrarrestar la falta de una vacuna contra *S. aureus* y la escasez cada vez mayor de nuevos antibióticos que funcionen contra este importante patógeno ⁽⁵⁾.

Las infecciones por *S. aureus* son particularmente muy problemáticas, debido al frecuente incremento a la resistencia a los antibióticos. En los aislamientos de *S. aureus*, se ha logrado aislar el *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA) de gran importancia clínica. Las infecciones por MRSA se acompañan de un aumento de la mortalidad, la morbilidad y la

estancia hospitalaria, en comparación con las causadas por *S. aureus* sensible a la meticilina (MSSA) ⁽⁶⁾.

La posibilidad de formar biopelículas (biofilm) por las bacterias, se asocia con la persistencia de las infecciones crónicas. Las biopelículas se forman cuando las bacterias encuentran una superficie en la que se adhieren y forman una matriz extracelular protectora que hace que el tratamiento en estos microorganismos sea muy complejo, debido a la resistencia de las estructuras de la biopelícula, es uno de los mecanismos que hacen que los microorganismos sean resistentes a los antibióticos, estas bacterias pueden expandirse rápidamente en los humanos ocasionando un problema mundial; los patógenos muestran resistencia a los antibióticos betalactámicos de primera línea como la ampicilina, penicilina y meticilina (MRSA), también muestran resistencia a la vancomicina (VISA) en este grupo están las bacterias de *Staphylococcus aureus* en la cual se ven limitados los tratamientos debido a su resistencia múltiple que hay hoy en día ^(7,8).

Como lo menciona Ondusko D, en su investigación:

Las constantes investigaciones en busca de alternativas para la terapéutica de infecciones de bacterias, ha llevado a poner la mira en las plantas medicinales, ya que gracias a la estructura química particular y la acción biológica diversa que caracteriza a los constituyentes de los productos naturales, abre nuevas áreas de investigación en los aspectos químico-farmacológico, farmacocinética y clínico ^(8,9).

La especie *Hura crepitans* L.; (Euphorbiaceae), conocida como catahua, es un árbol de gran tamaño con tronco espinoso y un látex con propiedades tóxicas, usado como árbol ornamental y de sombra; se les han descrito diversas aplicaciones terapéuticas a las hojas, corteza, las raíces y las semillas, tales como purgante, astringente y emolientes, usos dermatológicos, antimicótico, antibacteriano y para el uso en la hipertensión; de hecho, el látex

se usa como veneno para embadurnar las flechas usadas en la caza, se dice que hace que caigan los dientes enfermos. Se sabe que la savia lechosa es un veneno para los peces, debido a la presencia de huratoxina y hexahidrohuratoxina, dos lectinas con actividad hemaglutinante que inhiben la síntesis de proteínas ⁽¹⁰⁾.

Los látices de varios miembros de las Euphorbiaceae son cáusticos y tóxicos para los animales, y a veces se han utilizado en la medicina popular. Es así que el látex de *Hura crepitans* L. (*Hura brasilensis*) presenta propiedades de hemaglutinación y contiene una proteína, la crepitina, que se considera similar a la ricina, de la purificación del látex de la misma planta se ha indentificado una proteína, también llamada crepitina, que tenía actividad hemaglutinante, pero no mitogénica. De las semillas de *H. crepitans* se purificó una lectina mitogénica llamada hurina; estos compuestos son metabolitos secundarios involucrados en la defensa de las plantas que desempeñan un papel clave en la reducción del estrés oxidativo, que es una causa importante de diversas enfermedades humanas, como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, la diabetes y la obesidad ⁽¹¹⁾.

Por lo antes expuesto se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el Látex de *Hura Crepitan* (CATAHUA) sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*?

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos:

- Determinar el tamaño de los halos de inhibición según la concentración del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) al 25%, 50% y 75% sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.
- Comparar los halos de inhibición del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) a al 25%, 50% y 75% de concentración con el estándar de referencia doxiciclina (30ug/disco) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Antecedentes

De Igiri et al. en Nigeria, 2018, determinaron cuantitativamente los componentes fitoquímicos de los extractos de raíz, corteza y hoja de *Hura crepitans* y sus actividades antimicrobianas. Los resultados del análisis fotoquímico revelaron la presencia de saponinas, alcaloides, polifenoles, flavonoides y fenoles que fueron más altos en la hoja. Los terpenoides fueron más altos en la corteza y las lactonas de sesquiterpeno más altas en la raíz. Las zonas de inhibición a una concentración de 25mg/ml de extracto de corteza fueron de $18\pm 0,12$ mm frente a *S. aureus*; mientras que la concentración de 50 mg/ml de hoja presentó una zona de inhibición de $27\pm 0,20$ mm) (12).

Trinel et al. en Francia 2018, realizaron el perfilado de látex de *Hura crepitans* L. por cromatografía, para identificar daptanos, diterpenos y cerebrósidos. Los resultados demostraron que la presencia de esteres de dafina y cerebrósidos, en 24 esteres de dafina y 10 cerebrósidos. Entre ellos, 17 dafanos diterpenos y los cerebrósidos se describen por primera vez en el género *Hura*. Este estudio reveló los componentes químicos de látex de *H. crepitans*, su riqueza y diversidad química en los diterpenos de dafina ⁽¹³⁾.

Johnson et al. en Nigeria, 2018, realizaron la síntesis de nanopartículas de plata (AgNP) utilizando extracto acuoso de semilla de *Hura crepitans*, estos autores nos mencionan la siguiente metodología: “luego de haber probado el efecto de extracto acuoso de semilla de *Hura crepitans* contra dos gram positivos (*S. aureus* y *B. subtilis*) y microbios gramnegativos (*E. aerogenes* y *E. coli*) para evaluar sus actividades antimicrobianas. Las nanopartículas sintetizados mostraron inhibición contra los microbios gram positivos y negativos ensayados usando difusión en pozos de agar del orden de 4.5 mm para *E. aerogenes*, 4.5 mm para *E. coli*, 2.5 mm para *S. aureus* y 6.5 mm para *B. subtilis*. Los resultados sugirieron que la semilla de *Hura crepitans* exhibió buenas actividades antimicrobianas contra microbios seleccionados”⁽¹⁴⁾.

Ujunwa, en Nigeria, 2018, evaluó el perfil nutricional, el perfil de aminoácidos, el aceite y los factores toxicológicos de las semillas de *Hura crepitans*. En las semillas se encontraron flavonoides (17.50% en crudo), alcaloides (6.20% en crudo), taninos (5.24% en crudo), y glucósido cianogénico (1.76% en crudo), los principales ácidos grasos en el aceite fueron oleico (28.59%), linoleico (25.12%) y láurico (14.67%) ⁽¹⁵⁾.

Azuaje et al, en Venezuela, 2017, evaluó la actividad anti fúngica de los extractos hexanoico, etanólico y acetónico de las hojas de *Hura crepitans* L; por el método de difusión en agar con discos frente a *Cándida albicans* B-385. Solo el extracto etanólico inhibió el desarrollo de *C. albicans* con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de <20mg/ul. El estudio fotoquímico del extracto etanólico reveló compuestos como saponinas y esteroides, característicos de esta especie. Estos resultados contribuyen al estudio de las actividades biológicas de *H.crepitans* ya que es la primera vez que se reporta la actividad anti fúngica del extracto etanólico de las hojas ⁽¹⁶⁾.

Bases teóricas de la investigación

Propagación bacteriana

El contagio bacteriano producida por bacterias unicelulares que no se pueden observar a simple vista, causan infecciones que afectando diferentes partes del cuerpo humano desencadenando signos y síntomas muy graves ^(4,13).

Staphylococcus aureus.

Esta bacteria es muy peligrosa y en todas partes del mundo son las principales causantes de mortalidad y morbilidad; el proceso patológico puede tener un inicio de propagación rápida y con una alta resistencia a la meticilina; convirtiéndose en un protagonista de infecciones intrahospitalarias resistentes a la meticilina ^(3,5,7).

Etiopatogenia

Staphylococcus aureus es una bacteria relacionada de manera habitual con las ulceraciones en la piel y demás órganos a nivel periférico y metástasis. Estos procesos clásicos de *Staphylococcus aureus* define el marco en que evoluciona la enfermedad. Este microorganismo produce una reacción antiinflamatoria la que ocasiona una cadena de aumento de leucocitos polimorfos nucleares y una penetración de células macrófagos y fibroblastos ⁽¹⁵⁾.

Mecanismo de virulencia

La contaminación por invasión de *Staphylococcus aureus*, pueden estar producido por resistentes como no resistentes y por las adhesiones de estas a la piel dañada. La resistencia es consecuencia de las interacciones de múltiples receptores de *Staphylococcus aureus* durante la adherencia que pueden producir un proceso de sepsis, en donde están involucrados la fibromectina, laminina y fibrinógeno ^(16, 17).

La infección a causa de biotoxinas, son procesos causados por la presencia de metabolitos en la zona de herida que generan una serie de reacciones que ocasionan las manifestaciones clínicas ^(18,19).

Etapas de la infección por *Staphylococcus aureus*.

El tiempo de incubación es de 2-4 horas. Los síntomas más predominantes son náuseas, vómitos, espasmo de estómago, arcadas, diarrea, deshidratación, palidez y colapso nerviosos; con el tratamiento correcto la curación es en un plazo de 1-2 días. Este microorganismo produce 7 neurotóxicas con serotipos diferentes ^(20,21).

Fitoterapia

La fitoterapia es una ciencia que inicia con el recojo de datos muy antiguos sobre los efectos terapéuticos de una gran variedad de plantas y someterlas a estudios con el fin de obtener y aislar metabolitos muy eficaces y seguros; con ayuda de la tecnología se han podido seleccionar plantas que contienen metabolitos muy activos y a la vez muy tóxicos ^(22,23).

Planta medicinal

Son aquellas plantas que pueden utilizarse enteras o por partes específicas para tratar enfermedades de personas, animales o para curar lesiones; pues estas contienen principios activos con actividad farmacológica y que se extraen utilizando diferentes procesos para luego transformarlas en formas galénicas que son usadas para tratar diversas afecciones por los seres humanos ^(24,25).

Principio activo

Es aquel elemento que presenta acción farmacológica y que es extraída de forma natural o sintética y se puede utilizar para tratar cualquier enfermedad o dolencia a través de su administración a dosis terapéutica ^(26,27).

Extracto vegetal

Compuestos producidos por la obtención de sustancias biológicamente activas presentes en tejidos de plantas; estas sustancias se obtienen mediante procesos que no afecten los principios activos que interés farmacológico ^(26,28).

Hura crepitans

Hura crepitans es un árbol que crece hasta 40 metros de altura. Se puede distinguir por presentar muchas espinas oscuras, puntiagudas (cónicas). Su nombre común 'Monkey-no-climb' es en referencia al característico tronco espinoso. Las hojas son delgadas como el papel, en forma de corazón y de hasta 60 cm de largo. La estructura similar a las bayas son en realidad las flores masculinas que no tienen pétalos.

Las flores masculinas crecen en espigas largas; Las flores femeninas son solitarias. Las flores masculinas son ovoides a cónicas (5 por 2 cm), en su mayoría de color rojo oscuro. Tallos de flores (pedicelos) de hasta 10 cm de largo; flores femeninas sin pedicelo; colgante pedicelo fructífero hasta 6 cm; fruta oblata (3-5 x 8-9 cm) de diámetro, de color marrón rojizo, cóncava en la punta y la base, ranurada longitudinalmente. Las frutas son cápsulas en forma de calabaza, de 3-5 cm de longitud con un diámetro de 5-8 cm; Tiene 16 carpelos dispuestos radialmente alrededor del eje central. Las semillas son aplanadas y tienen unos 2 cm de diámetro ⁽²³⁾.

HIPÓTESIS

Hipótesis Alternativa (H₁):

El látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis Nula (H₀):

El látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) no presenta efecto antibacteriano in vitro sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

II. METODOLOGÍA

2.1. Objeto de estudio:

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo. El estudio experimental estuvo formado por 25 placas Petri, conteniendo Agar Müller Hinton y el sembrado de cultivo de *S. aureus* de las cuales se subdividieron en 5 grupos conformados por: ^(17, 18).

Grupo blanco

Formado por 05 placas con Agar Müller Hinton como medio de cultivo, se utilizó el cultivo de *Staphylococcus aureus*. se colocaron 04 discos conteniendo el solvente de dilución del látex (Solución salina tamponada 0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, pH 7.2), utilizando la técnica de Kirby– Bauer, se incubó por 24 horas a una temperatura 35⁰C-37⁰C. La lectura se realizó a las 24 horas usando un vernier manual.

Grupo Estándar farmacológico: Formado por 05 placas con Agar Müller Hinton como medio de cultivo, se utilizó cultivo de *Staphylococcus aureus*. se colocaron 04 discos conteniendo doxiciclina (30ug/disco), utilizando la técnica de Kirby–Bauer, se incubó por 24 horas a una temperatura 35⁰C-37⁰C. La lectura se realizó a las 24 horas usando un vernier manual.

Grupo Experimental I:

Formado por 05 placas con Agar Müller Hinton como medio de cultivo, se utilizó el cultivo de *Staphylococcus aureus*. se colocaron 04 discos conteniendo el látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) diluido al 25% en Solución salina tamponada 0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, pH. 7.2; utilizando la técnica de Kirby–Bauer, se incubó

por 24 horas a una temperatura 35⁰C-37⁰C. La lectura se realizó a las 24 horas usando un vernier manual.

Grupo Experimental II:

Formado por 05 placas con Agar Müller Hinton como medio de cultivo, se utilizó el cultivo de *Staphylococcus aureus*. se colocaron 04 discos conteniendo el látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) diluido al 50% en Solución salina tamponada 0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, pH. 7.2; utilizando la técnica de Kirby–Bauer, se incubó por 24 horas a una temperatura 35⁰C-37⁰C. La lectura se realizó a las 24 horas usando un vernier manual.

Grupo experimental III

Formado por 05 placas con Agar Müller Hinton como medio de cultivo, se utilizó el cultivo de *Staphylococcus aureus*. se colocaron 04 discos conteniendo el látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) diluido al 75% en Solución salina tamponada 0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, pH. 7.2; utilizando la técnica de Kirby–Bauer, se incubó por 24 horas a una temperatura 35⁰C-37⁰C. La lectura se realizó a las 24 horas usando un vernier manual.

Población y muestra:

Población:

Dado que se trata de un estudio experimental que utiliza cultivos de *Staphylococcus aureus* no es necesario presentar una población.

2.2. Instrumentos, técnicas, equipos de laboratorio de recojo de datos

<i>Variable</i>	<i>Definición conceptual</i>	<i>Definición operacional</i>	<i>Dimensiones</i>	<i>Indicadores</i>
Independiente Concentración del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA).	Producto vegetal que es una mezcla compleja de sustancias, incluyendo varias resinas de goma, grasas o ceras y, en algunos casos, compuestos venenosos, suspendidos en un medio acuoso en el que se disuelven sales, azúcares, taninos, alcaloides, enzimas y otras sustancias ⁽¹³⁾ .	Se obtiene por goteo de un corte de la corteza de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) el cual será diluido en Solución salina tamponada 0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, Ph7.2 ⁽⁸⁾	G ₁	Látex al 25%
			G ₂	Látex al 50%
			G ₃	Látex al 75%
			G ₄	Doxiciclina 30 ug
			G ₅	Solvente de dilución de látex
Dependiente: Efecto antibacteriano.	Es el efecto logrado al inhibir el crecimiento de una determinada colonia de bacterias por inhibición o destrucción de las mismas ⁽¹⁸⁾ .	Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos conteniendo los extractos ⁽¹⁶⁾ .	Sensible	≥ 21mm.
			Intermedio	16 - 20mm.
			Resistente	≤ 15mm.

Técnica e instrumentos de recolección de datos

Material vegetal y obtención de los extractos:

El látex de *Hura crepitans* se obtuvo de la corteza de la planta luego fue inmediatamente diluido con solución salina tamponada (0.14M-Na CL en solución reguladora de fosfato de 5m M –sodio, Ph7.2) y congelado ⁽¹¹⁾.

Técnica de Sembrado.

Los cultivos de *S. aureus* se sembraron en un medio de cultivo Agar MH. El tiempo de incubación y observación del crecimiento es en 24h. a una temperatura de 37 °C, después de la incubación y observación del crecimiento de los cultivos, se transfirió utilizando un bucle estéril, tomando una parte de las colonias cultivadas a un tubo de ensayo que contiene 500ul de la solución tamponada con fosfato (PBS) con un pH 7,2. Después de homogenizar las colonias de *S. aureus* en la solución tampón. Se preparó la solución del Nefelómetro de Mac Farland, con densidad celular de 1×10^6 UFC/ml. (0.5 del nefelómetro). Seguidamente, se colocaron de 2 a 3 colonias de *S. aureus* en suero fisiológico previamente esterilizado para determinar el grado de turbidez según la escala de Mac Farland ^(27,28).

Preparación del inóculo para *S. aureus*.

Se prepara usando un asa bacteriológica, transferir estas colonias, tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica en el cultivo se toca 4 -5 colonias ≥ 1 mm con un tiempo de incubación de 24h. No se puede utilizar cultivos de más de 24h. Para el crecimiento de la bacteria se realiza en un medio de cultivo de Agar MH en una placa. Incubar este cultivo de 35°C- 37°C. Se diluye el cultivo al suspender en un tubo con solución salina estéril o caldo estéril, para obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland. Se agita y se ajusta a una densidad óptica de 0.5 Mc Farland, añadiendo la cantidad necesaria de la solución salina. En la cual esta solución tiene una concentración de 1×10^6 - 5×10^6 UFC/ml ^(27, 28).

Siembra de la muestra:

Se utilizó un asa bacteriológica o un hisopo estéril, luego se sumergió en la solución preparada para tomar *S. aureus*. Se coloca el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo. En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se siembre el inóculo de manera uniforme. La siembra se hace en 3 direcciones evitando el exceso. Se deja la placa tapada entre 5 minutos para que la superficie del medio se seque. Después del sembrado de la bacteria en estudio, se coloca los discos en la superficie del Agar dentro de la placa usando pinzas estériles, presionar los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme. En la superficie de la placa se coloca 3 discos en la periferia y 1 en el centro, con una medida de 2cm de distancia entre disco y disco, para evitar que el halo de inhibición quede sobrepuesto. Se incuba las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 35⁰C - 37⁰C. Se realizó la lectura de los halos de inhibición después de los tiempos a los que estén expuestos, en 24h ⁽²⁸⁾.

Método de difusión de discos:

El método más común en la evaluación antimicrobiana es el ensayo Kirby-Bauer. Los discos empleados son impregnados del látex de *Hura crepitans* en diferentes concentraciones (25%,50% y 75%) para colocarlas en cada placa a una distancia establecida. Al ser sometidos a incubación de 37°C en 24 h. para *S. aureus*, el látex difunde radialmente desde el disco a través del Agar, la concentración disminuye al extenderse y alejarse desde el punto de disco. Llega a un punto en que el extracto no ejerce actividad antibacteriana frente al cultivo. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco, puede clasificarse en diferentes categorías de sensible, intermedio o resistente (S,I,o R) ^(27,28).

2.3. Análisis de la información

La recolección de información se realizó usando una ficha de recolección de datos, para luego ser tabulados en el programa Excel 2013, y ser procesados a través del paquete estadístico SPSS-Versión 25.0. Para lo cual se contó con un profesional estadístico, por criterios de normalidad de los datos se utilizó la prueba ANOVA para la comparación entre varios grupos ya sea inter e intra grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0,5$) y la prueba T-student para la comparación entre dos grupos (la medición durante 24 horas) ⁽²⁹⁾.

2.4. Aspectos éticos en investigación

El presente trabajo de investigación de diseño experimental fue realizado teniendo en cuenta las normas del “Código de Ética de Investigación Científica” de la Universidad Católica de Trujillo-Benedicto XVI, siguiendo los preceptos que la rigen:

Fomento del desarrollo sostenible:

Proponer, diseñar, desarrollar, ejecutar y difundir investigaciones científicas que respeten y protejan la biosfera y la biodiversidad con criterios de sostenibilidad, pertinencia y validez científica, evitar todo daño o acciones lesivas a la naturaleza, lo que significa entender y considerar el nivel de interrelación íntima que existe entre todos los elementos bióticos, abióticos, socioeconómicos, culturales y estéticos entre sí y con los individuos que integran una comunidad. Esta incluye el respeto absoluto del patrimonio genético de las diversas variedades de seres vivos. Respetar la vida y el valor de los demás seres vivos.

Responsabilidad, rigor científico y veracidad:

Observar una conducta cabal durante el desarrollo de una investigación, sin abrogarse logros que no correspondan con las responsabilidades asumidas, ni incurrir en prácticas de suplantación o encubrimiento con el fin de obtener un beneficio para sí o para un tercero. Responsabilidad respecto a la pertinencia, alcances y repercusiones de sus investigaciones, tanto a nivel individual, institucional y social. Proceder con rigor científico para asegurar la validez, fiabilidad y credibilidad de fuentes, métodos y datos. Desplegar estricto apego a la veracidad en todas las etapas del proceso de la investigación.

Divulgación responsable de la investigación:

Es responsabilidad de todo investigador publicar y difundir los resultados de una investigación realizada en un ambiente de ética, pluralismo ideológico y diversidad cultural.

También devolver los resultados a las personas, grupos y comunidades participantes en la investigación.

Justicia y bien común:

Todos los que estén comprometidos en la investigación en la UCT deben anteponer la justicia y el bien común al interés personal, evitando los efectos nocivos que puedan generar las investigaciones en las personas, el ambiente y la sociedad ⁽³⁰⁾.

III. RESULTADOS

Tabla 1.

Prueba de análisis de varianza del efecto antibacteriano del *Látex de Hura crepitans* “catahua” a diferentes concentraciones y doxiciclina como control positivo sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro.

ANOVA					
Látex hura crepitans “catahua”					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	gl.	Media cuadrática	F	Sig.
Tratamiento	1738.4	3	579.47	2420.55	0.000
Error experimental	18.2	76	0.24		
Total	1756.62	79			

Fuente: Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición (mm) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.
Salida SPSS versión 25.0

Interpretación.

En la Tabla 1 se observa el análisis de varianza (ANOVA) del efecto antibacteriano del *Látex Hura crepitans* “catahua” a las concentraciones : 25%, 50%, 75% y doxiciclina como control positivo sobre cultivos *Staphylococcus aureus*. La prueba F calculado es 2420.55 con nivel de significancia de 0.000, la cual es menor al 5% ($p < 0.05$), es decir, se demuestra actividad antibacteriana.

Tabla 2.

Prueba Post Hoc del efecto antibacteriano del *Látex Hura crepitans* “catahua” a diferentes concentraciones y doxiciclina como control positivo sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro.

POST HOC				
HSD Tukey				
Concentración de Látex <i>Hura crepitans</i> “catahua”	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Látex 25%	20	11.77		
Látex 50%	20	14.76		
Látex 75%	20		18.67	
Doxiciclina	20			24.23
	Sig.	0.575	1.000	0.816

Fuente: Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición (mm) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.
Salida SPSS versión 25.0

Interpretación.

En la Tabla 2 se observa el análisis Pos Hoc (POST-ANOVA) del efecto antibacteriano del Látex de *Hura crepitans* “catahua”, sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro, a las concentraciones de: 25% con un halo promedio de 11.77 mm donde según la escala del CLSI es de nivel resistente, a la concentración de 50% con un halo promedio de 14.76 mm donde según la escala del CLSI es de nivel resistente, a la concentración de 75% con un halo promedio de 18.67 mm donde según la escala del CLSI es de nivel intermedio y doxiciclina (30µg) como control positivo con un halo promedio de 24.23 mm donde según la escala del CLSI es de nivel sensible. Siendo la concentración de látex del 75% el que presenta un efecto intermedio y la doxiciclina que tienen mayor efecto antibacteriano en cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro respecto a las otras concentraciones.

Tabla 3.

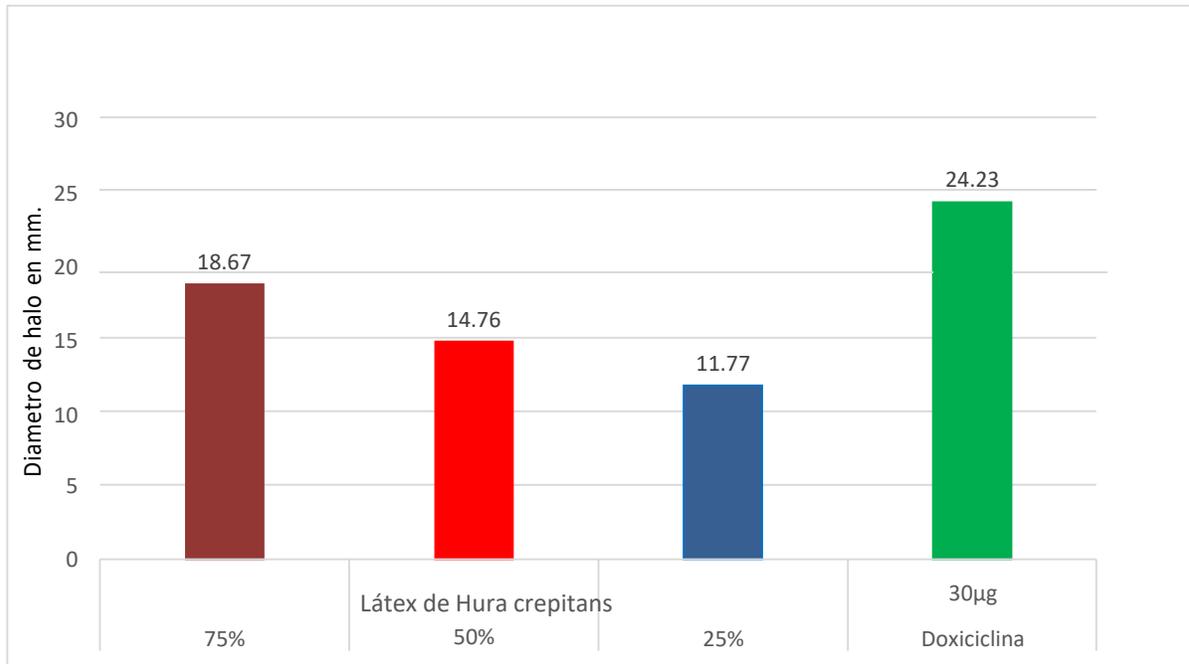
Actividad antibacteriana, in vitro, por diferentes concentraciones de *Látex de Hura crepitans* “catahua” sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 horas de incubación, usando doxiciclina como grupo control positivo.

Diámetro de los halos de inhibición (mm) en los cultivos de <i>Staphylococcus áureas</i>					
Discos	Látex de <i>Hura crepitans</i>			Doxiciclina 30µg/disco	Solvente de látex
	75%	50%	25%	Control (+)	Control (-)
1	19.07	14.21	11.27	24.18	0
2	18.32	15.53	12.33	24.72	0
3	19.18	14.78	11.54	23.89	0
4	18.56	15.32	12.76	25.04	0
5	18.89	13.96	12.38	25.11	0
6	18.28	14.85	12.14	24.32	0
7	18.97	13.86	11.88	23.95	0
8	18.65	13.76	11.23	24.65	0
9	18.48	14.45	11.92	24.08	0
10	18.83	15.56	11.56	23.91	0
11	18.93	14.97	11.37	24.15	0
12	18.41	15.37	11.29	23.77	0
13	19.05	15.65	12.18	24.67	0
14	18.45	14.93	11.17	23.55	0
15	18.26	13.81	11.16	23.75	0
16	18.16	14.76	11.83	23.35	0
17	18.76	15.46	11.92	24.47	0
18	18.57	13.98	11.46	23.78	0
19	18.93	14.87	11.97	24.52	0
20	18.65	15.12	12.04	24.74	0
Promedio	18.67	14.76	11.77	24.23	0
Desv.	0.3035	0.6400	0.4589	0.4952	0

Fuente: Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición (mm) sobre cultivos de *Staphylococcus áureus*. Salida SPSS versión 25.0

Figura 1.

Comparación del efecto antibacteriano, de *Hura crepitans* en los cultivos de de *Staphylococcus aureus* expresados por el diámetro del halo (mm) de inhibición a las 20 horas de incubación, usando doxiciclina como grupo control positivo.



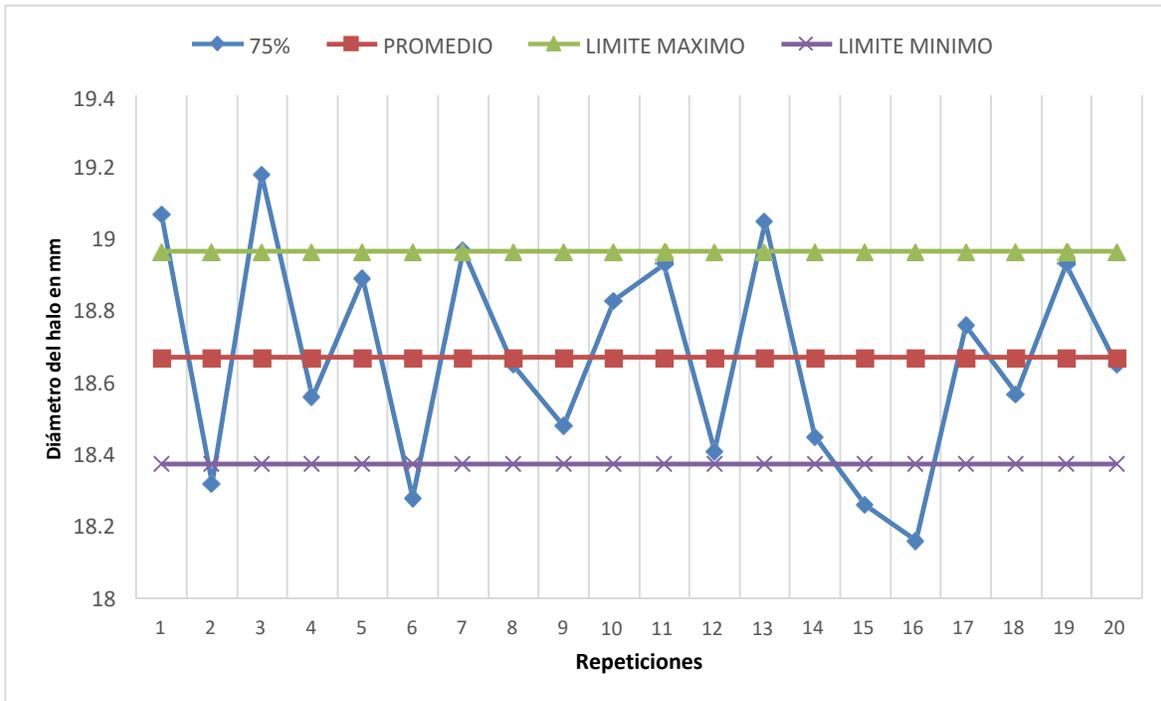
Fuente: Tabla 3
Salida SPSS versión 25.0

Interpretación.

En la Figura 1 se observa la comparación del efecto antibacteriano, expresados por el diámetro promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Staphylococcus aureus* con 20 hrs de incubación, producidos por las concentraciones de Látex de *Hura crepitans* “catahua” 25%, 50%, 75% y doxiciclina como control positivo. Determinandose que la dosis con mayor actividad antibacteriana en los cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro es con la concentración de 75% de látex de *Hura crepitans* “catahua” y la doxiciclina según la escala CLSI.

Figura 2.

Desviación Estándar del diámetro de los halos de inhibición (mm) producidos por los discos de papel que contienen 5 μ L de látex *Hura crepitans* “catahua” al 75%.

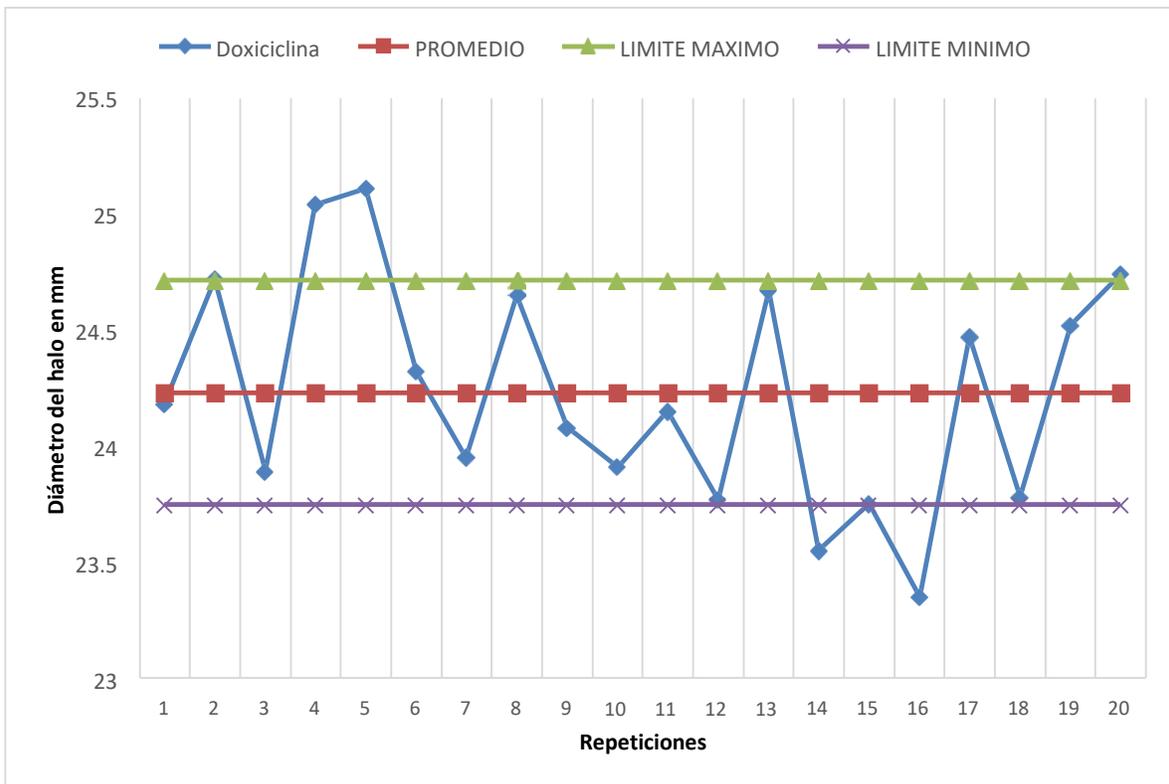


Fuente: Tabla 3.

Salida SPSS versión 25.0

Figura 3.

Desviación Estándar de los halos de inhibición (mm) producidos por los discos de papel que contienen doxiciclina a la concentración de $3\mu\text{g}/\text{disco}$.



Fuente: Tabla 3.

Salida SPSS versión 25.0

IV. DISCUSIÓN

En la tabla 1 se observa la prueba de hipótesis para el presente estudio, donde se aprecia que el valor de $p < 0.05$ es decir el Análisis de Varianza (ANOVA) señala una diferencia estadísticamente significativa, aceptando la hipótesis alternativa, el látex de *Hura crepitans* presenta efecto antibacteriano frente a cultivos de *S. aureus*; estos resultados concuerdan con lo reportado por Igiri et al, quienes reportan un halo de inhibición de $18 \pm 0,12$ mm; el efecto antibacteriano podría estar mediado por la presencia de terpenoides y lactonas de sesquiterpenos, que se encuentran en cantidades considerables en las cortezas de esta especie vegetal ⁽¹²⁾.

Los tejidos vegetales son fuentes naturales de moléculas bioactivas para el control de patógenos que causan infecciones en plantas y humanos, ya que contienen metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, especialmente terpenoides que son responsables de la protección de varias plantas contra herbívoros y patógenos ⁽²¹⁾.

En la Tabla 2 se observa que luego del análisis Pos Hoc (POST-ANOVA) del efecto antibacteriano del Látex de *Hura crepitans* “catahua”, sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro, las concentraciones de 25% y 50% tuvieron halos promedios de 11.77 mm y 14.76 mm respectivamente en ambos casos son de nivel resistente según la escala del CLSI mientras que a concentración de 75% el halo promedio de inhibición fue de 18.67 mm que según escala del CLSI es de nivel intermedio y el fármaco de referencia doxiciclina (30 μ g) tuvo un halo promedio de 24.23 mm que según escala del CLSI es de nivel sensible. Estos valores indicarían que el efecto antibacteriano del latex de *H. crepitans* es dependiente de la dosis usada, ya que la concentración más alta (75%) fue la que mostró los mayores halos de inhibición.

En la Tabla 03 donde se observa el promedio y la desviación estándar de cada grupo de experimentación, donde los valores más considerables en los halos de inhibición fueron presentados por el fármaco de referencia y por el extracto de *H. crepitans* al 75%. En la Figura

1 se puede apreciar el comparativo del efecto antibacteriano, expresados por el diámetro promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Staphylococcus aureus* con 20 hrs de incubación, producidos por las concentraciones de Látex de *Hura crepitans* “catahua” 25%, 50%, 75% y doxiciclina. Aquí nuevamente se aprecia que entre los grupos de experimentación el de mayor actividad antibacteriana en los cultivos de *Staphylococcus aureus* in vitro es con la concentración de 75% de látex de *Hura crepitans* “catahua” según la escala CLSI.

El mecanismo de la actividad antibacteriana de los terpenoides está asociado a la pérdida de la integridad de la membrana celular y una fuga de iones tras el tratamiento a células Gram-negativas y Gram-positivas con terpenoides después de un tratamiento prolongado; también se observan fugas de material genético y aumento de la permeabilidad de la membrana para otras moléculas; el grupo hidroxilo del resto fenol, en algunos terpenoides, es esencial para su efecto, ya que ni los derivados de O-metilo ni los grupos bencílicos son tan efectivos; por lo tanto, se presume que la perturbación del homeostasis iónica es la responsable de la actividad antibacteriana; al aumentar la permeabilidad de la membrana celular, esto sería la clave para la acción de los terpenoides contra las células bacterianas ⁽²²⁾.

La figura 02 y 03 muestran los rangos de variación entre las desviaciones estándar de los grupos de experimentación, se aprecia que 06 valores del grupo experimental del extracto *H crepitans* al 75% se encuentran fuera de los límites superiores e inferiores del rango promedio, mientras que en el grupo de Doxiciclina esto ocurre sólo con 4 valores, esto es atribuible a que en el grupo del extracto se encuentran un número más grande metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana, mientras que en el fármaco es una molécula purificada con mecanismo de acción antibacteriano ya conocido.

La identificación de ésteres de dafina y cerebrósidos reportados por Trinell et al, podrían explicar el mecanismo dependiente de la concentración, observado en el presente estudio; debido a que los ésteres de dafina al igual que los cerebrósidos inducen respuestas rápidas en la

generación de especies reactivas de oxígeno, lo que llevaría a inestabilidad de la pared celular bacteriana, activando enzimas proteolíticas del hospedero, llevando a una falla general de la estructura de los proteoglicanos (efecto citotóxico)⁽¹³⁾. Es importante recalcar que toda la planta *Hura crepitans* poseería estas propiedades antibacterianas pues como lo reportó **Johnson et al**, incluso el aceite de las semillas de esta planta mostró actividad inhibitoria para *S. aureus* (6.5 mm)⁽¹⁴⁾.

Dentro de los metabolitos que han sido identificados en *H crepitans*, según reporta **Ujunwa et al.**, se encontraron flavonoides, alcaloides, taninos, y glucósido cianogénico; resultando cruciales en la explicación del efecto antibacteriano la presencia de taninos; la actividad antimicrobiana de los taninos incluyen la inhibición de las enzimas microbianas extracelulares, la privación de los sustratos necesarios para el crecimiento microbiano o la acción directa sobre el metabolismo microbiano a través de la inhibición de la fosforilación oxidativa, se propone otro mecanismo que involucra la privación de hierro⁽¹⁵⁾.

La actividad antibacteriana encontrada en el presente estudio puede ser comparada con lo hallado por **Azuaje et al**, en Venezuela, 2017, evaluó la actividad anti fúngica de los extractos hexanoico, etanólico y a cetónico de las hojas de *Hura crepitans L*; por el método de difusión en agar con discos frente a *Cándida albicans* B-385. Solo el extracto etanólico inhibió el desarrollo de *C. albicans* con una concentración inhibitoria mínima (CIM) de <20mg/ul. El estudio fitoquímico del extracto etanólico revelo compuestos como saponinas y esteroides, característicos de esta especie. Estos resultados contribuyen al estudio de las actividades biológicas de *H. crepitans* ya que es la primera vez que se reporta la actividad anti fúngica del extracto etanolico de las hojas⁽¹⁶⁾.

V. CONCLUSIONES

- El látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) tiene efecto antibacteriano in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

- Los halos de inhibición presentados según la concentración del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA) al 25%, 50% y 75% sobre *Staphylococcus aureus* mostraron mejores resultados cuanto más alta fue la dosis (75%) sin embargo utilizando un fármaco de referencia (Doxiciclina) los extractos no presentaron una respuesta significativamente similar al fármaco, siendo éste el de mejores resultados.

VI. RECOMENDACIONES

- Seguir con futuras investigaciones al respecto de su efecto que denotó frente a la bacteria de *Staphylococcus aureus*.

- Describir en futuras investigaciones el metabolito principal y responsable del efecto antibacteriano para la elaboración de compuestos antibacterianos.

- Aprovechar este compuesto fitoquímico en el tratamiento complementarios por *Staphylococcus aureus*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adhikari B, Marasini B, Rayamajhee B, Bhattarai B, Lamichane G, Jadayat K, et al. Potential roles of medicinal plants for the treatment of viral diseases focusing on COVID-19: A review. *Phytother Res* [Internet]. 2021 [citado el 12 de mayo 2022];35:1298-1312. Disponible de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ptr.6893>
2. Toda M, Masuda M, Rengifo E. Medicinal Plant Use Influenced by Health Care Service in Mestizo and Indigenous Villages in the Peruvian Amazon. *J Sustain Dev* [Internet]. 2017 [citado el 12 de mayo 2022];10(3). Disponible de: <https://pdfs.semanticscholar.org/8e8e/d82a92d43813a68f2fc43d444d7fde9faa1c.pdf>
3. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology* [Internet]. 2020 [citado el 12 de mayo 2022];10:107. Disponible de: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00107/full>
4. Cheung G, Bae J, Otto M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence* [Internet]. 2021 [citado el 12 de mayo 2022];12(1):547-569. Disponible de: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2021.1878688>
5. Lee A, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra S, Peschel A; et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers* [Internet]. 2018 [citado el 12 de mayo 2022];4(18033):1-23. Disponible de: <https://www.nature.com/articles/nrdp201833>
6. Tong S, Davis J, Eichenberger E, Holland T, Fowler V. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol*

- Rev [Internet]. 2015 [citado el 12 de mayo 2022];28(3):603–661. Disponible de: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/CMR.00134-14>
7. Turner N, Sharma B, Maskarinec S, Eichenberger E, Shah P, Carugati M, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2015 [citado el 12 de mayo 2022];17:203-218. Disponible de: <https://www.nature.com/articles/s41579-018-0147-4>
 8. Ondusko D, Nolt D. Staphylococcus aureus. Pediatrics in review [Internet]. 2018 [citado el 12 de mayo 2022];39(6), 287-298. Disponible de: <https://renaissance.stonybrookmedicine.edu/sites/default/files/Staph-Infections-PIR-2018.pdf>
 9. Paduch R, Kandefer M, Trytek M, Fiedurek J. Terpenes: substances useful in human healthcare. Arch. Immunol. Ther. Exp [Internet]. 2007 [citado el 12 de mayo 2022];55:315-327. Disponible de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00005-007-0039-1>
 10. Vassallo A, Armentano M, Miglionico R, Caddeo C, Chirollo C, Gualtieri M, et al. *Hura crepitans* L. extract: Phytochemical characterization, antioxidant activity, and nanoformulation. Pharmaceutics [Internet]. 2020 [citado el 12 de mayo 2022];12(6), 553. <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/6/553>
 11. Azuero A, Jaramillo C, San Martin D, Haydelba D. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Rev Cienc UNEMI [Internet]. 2016 [citado el 12 de mayo 2022];9(20):11–18. Disponible de: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/342/295>

12. Igiri I, Nwaehujor C, Adika O, Kolawale I, Ejiofor C, Igile G, et al. Phytochemical and antimicrobial studies of root, stem bark and leaf extracts of *Hura Crepitans* L. (sand box tree). PhOL [Internet]. 2018 [citado el 12 de mayo 2022];3:105-112. Disponible de: https://www.researchgate.net/profile/Charles_Ejiofor/publication/330292061_Phytochemical_and_antimicrobial_studies_of_root_stem_bark_and_leaf_extract_of_hura_crepitans_1_sand_box_tree/links/5c377b90a6fdccd6b5a19cbd/Phytochemical-and-antimicrobial-studies-of-root-stem-bark-and-leaf-extracts-of-hura-crepitans-l-sand-box-tree.pdf
13. Trinel M, Jullian V, Lamer A, Mhamdi I, Mejia K, Castillo D, et al. Profiling of *Hura crepitans* L. latex by ultra-high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionisation linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. Phytochem Anal [Internet]. 2018 [citado 14 de mayo 2022];29(6):627–638. Disponible de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30019471>
14. Johnson J, Ogunmodede O, Osunlana R, Olarewaju S, Okezie J. *Hura crepitans* seed mediated biosynthesis of silver nanoparticles, characterization and its antimicrobial activity against microorganism. Journal of Bionanoscience [Internet]. 2018 [citado el 14 de mayo 2022];12(5):614-620. Disponible de: <https://www.ingentaconnect.com/content/asp/jobn/2018/00000012/00000005/art00003#Supp>
15. Ujunwa E. Evaluation of the Nutritional, Amino-Acid Profile, Oil and Toxicological Factors of Sand Box (*Hura Crepitans*) Seeds [Internet]. Nigeria: Project champion, 2021 [citado el 14 de mayo 2022]. Disponible de: <https://projectchampionz.com.ng/2021/05/22/evaluation-of-the-nutritional-amino-acid-profile-oil-and-toxicological-factors-of-sand-box-hura-crepitans-seeds/>

16. Azuaje M, Villarreal S, Rojas L, Díaz C, Velasco J. Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) frente a *Candida albicans* (In vitro antifungal activity of extracts of *Hura crepitans* L. (Euphorbiaceae) against *Candida albicans*). *Avan Biomed* [Internet]. 2017 [citado el 14 de mayo 2022];6(3):197–202. Disponible de: <https://www.redalyc.org/journal/3313/331355421003/331355421003.pdf>
17. Sacsquispe Contreras, Rosa, and Jorge Velásquez Pomar. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión [Internet]. Perú: MINSA-INS, 2002 [citado el 14 de mayo 2022];2(18):1-67. Disponible de: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_1_sensibilidad.pdf
18. Doxycycline - DrugBank [Internet]. 2022 [citado el 14 de mayo 2022]. Disponible en: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00254>
19. Castillo J, Trejo G, Caballero A, Meza P, Domínguez M, Olivier F, et al. Evaluación del efecto antibacteriano de extractos de ocho plantas del estado de Chiapas. *Lacandonia*. Lacandonia: [Internet]. 2016 [citado el 14 de mayo 2022];10(1)2016. Disponible en: <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/1871>
20. Pimentel E, Castillo D, Quintana M et al. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad buccal. *Rev Estomatol Herediana* [Internet]. 2015 [citado el 14 de mayo 2022];25(3): 268-277. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>
21. Mamani M, Vasquez F. Estudio del uso racional de antibióticos en la población del distrito de Huancayo [Tesis doctoral en Internet]. Huancayo: Universidad Privada De Huancayo

“Franklin Roosevelt”, 2016. [citado el 14 de mayo 2022]. 114p. Disponible de:
<https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/21/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

22. Schweizer M, Rajeshwari N. A practical guide to systematic literature reviews and meta-analyses in infection prevention: Planning, challenges, and execution. *Am. J. infectar. Control* [Internet]. 2017. [citado el 14 de mayo 2022];45(11):1292-1294
Disponible de:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0196655317309513>

23. Ascioğlu S, Rex J, Pauw B, Bennett J, Bille J, Crokaert F, et al. Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2002 [citado el 14 de mayo 2022];34(1):7–14. Disponible de:
<https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/323335>

24. Ramos M, Teixeira C, Sousa F, Prado E, Medina M, Demarco D. Plant latex and latex-borne defense. *Adv. Bot. Res* [Internet]. 2020 [citado el 15 de mayo 2022];93:1-25.
Disponible de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065229619300795>

25. Zubairi A, Mamary M, Ghasani E. The Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Activities of Essential Oil from Different Aromatic Plants. *Glo Adv Res J Med Med Sci* [Internet]. 2017 [citado el 15 de mayo 2022];6(9): 224-233. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/321035050_The_Antibacterial_Antifungal_and_Antioxidant_Activities_of_Essential_Oil_from_Different_Aromatic_Plants

26. Cantón R, Ruiz P. Infecciones causadas por bacterias grampositivas multirresistentes (Staphylococcus aureus y Enterococcus spp.). *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2013 [citado 15 de mayo 2022];31(8):543–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.08.001>
27. Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-Bauer. *Biomédica* [Internet]. 1984 [citado el 15 de mayo 2022];4(3-4):112-121. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>
28. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica* [tesis doctoral en Internet]. Uruguay: Universidad de la República Facultad de Medicina, 2008 [citado el 15 de mayo 2022].663-671 Disponible de: <https://docplayer.es/6018195-Metodos-de-estudio-de-la-sensibilidad-antibiotica.html>
29. López P, Fachelli S. Análisis de varianza. Metodología de la investigación social cuantitativa [tesis doctoral en Internet]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, 2016. [citado el 15 de mayo 2022. Disponible en: <https://ddd.uab.cat/record/163568>
30. Código de ética para la investigación Universidad Católica Benedicto XVI v. 1.0 [Internet]. Trujillo: Universidad Católica Benedicto XVI, 2019. [citado el 15 de mayo 2022]. Disponible en: https://www.uct.edu.pe/images/transp/CDIGO_DE_TICA_INSTITUCIONAL_VERSIN_10_13072020_COVID.pdf
31. Cavero A. Efecto antimicrobiano in vitro del látex de *Synadenium grantii*, frente a *Escherichia coli*, Sullana; 2018 [tesis doctoral en Internet]. Sullana: Universidad San Pedro, 2018. [citado el 15 de mayo 2022]. 87 p. Disponible en: http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/10752/Tesis_60991.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS:

Matriz de consistencia

Título	Formulación del problema	Hipótesis	Objetivos	Variables:	Dimensiones	Metodología
Efecto antibacteriana in vitro del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>	Presentará efecto antibacteriano in vitro del látex de <i>hura crepitans</i> sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<p>Hipótesis general. El látex de <i>hura crepitans</i> presenta efecto antibacteriano in vitro sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Hipótesis específica. El látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) al 25%, 50% y 75% tendrá actividad antibacteriana sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>El látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) tendrá actividad antibacteriana comparada con el estándar de referencia doxiciclina (30ug/disco) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Objetivo general Determinar el efecto antibacteriano in vitro del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar el tamaño de los halos de inhibición según la concentración del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) al 25%, 50% y 75% sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>. • Comparar los halos de inhibición del látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) a al 25%, 50% y 75% de concentración con el estándar de referencia doxiciclina (30ug/disco) sobre cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>. 	Variable independiente Látex de <i>Hura crepitans</i> Variable dependiente Efecto antibacteriano	Tres concentraciones v/v. Cuantitativa. Tamaño del halo Diámetro del halo de inhibición del crecimiento Cuantitativa discreta.	Tipo: Experimental Población y muestra: Látex de <i>Hura crepitans</i> (CATAHUA) Técnicas e instrumentos de recolección de datos: Métodos de Disco difusión Kirby-Bauer Métodos de análisis de investigación: Prueba de hipótesis ANOVA post HOC Tukey

Figura 4: Planta de *Hura crepitans* (CATAHUA)



Figura 5: Certificación de la planta de *Hura crepitans* (CATAHUA)

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Malpighiales
- Familia: Euphorbiaceae
- Género: *Hura*
- Especie: *H. crepitans* L.
- Nombre común: "catahua"

Muestra alcanzada a este despacho por CARLOS JULCA SANCHEZ, identificado con DNI: 43061906, con domicilio legal en Jr. Punta de Coca S.n. San Martín. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: Efecto antibacteriana in vitro del látex de *Hura crepitans* "catahua" sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 11 de octubre del 2019





Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT

Figura 6: Extracción del látex de *Hura crepitans* (CATAHUA)

